云 南 植 物 研 究 1991; 13(2): 225—230
Acta Botanica Yunnanica

ISSN 0253-2700
CN 53-1039

千金藤属植物生物碱的高效液相色谱定量分析

阮德椿[1] 张雪梅[1] 赵春景[2] 王方材[2] 田利孝[3] 杨崇仁[1*]

（1 中国科学院昆明植物研究所，昆明650204）（2 云南省中医学院）（3 贵阳市卫生学校）

摘要 采用Zorbax CN柱，以MeOH : H_2O : NH_4OH为流动相，在282nm紫外吸收波长检测下，测定了云南和贵州产 9 种千金藤属（*Stephania*）植物12个样品中千金藤素、汉防己甲素、轮环藤宁、光千金藤碱、颅痛定、克班宁、异紫堇定及荷包牡丹碱等 8 个异喹啉类生物碱的含量，讨论了这些生物碱的分布规律。

关键词 千金藤属；异喹啉生物碱；高效液相色谱

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF ALKALOIDS IN STEPHANIA PLANTS

RUAN De-Chun[1], ZHANG Xue-Mei[1], ZHAO Chun-Jing[2], WANG Fang-Cai[2], TIAN Li-Xiao[3], YANG Chong-Ren[1*]

(1 *Kunming Institute of Botany, Academia Sinica*, Kunming 650204)
(2 *Yunnan Traditional Chinese Medical College*, Kunming)
(3 *Guiyang Training School of Health*, Guiyang)

Abstract Composition and contents of eight isoquinolide alkaloids stepholidine(1), rutodine(2), crebanine(3), isocorydine(4), dicentrine(5), cepharanthine(6), tetrandrine(7) and cycleaninein(8)] in nine species of *Stephania* plants from yunnan and Guizhou which were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) on a Zorbax CN column using MeOH : H_2O : NH_4OH as mobile phase and UV (282nm) as detector. The distribution of these alkoloids in the genus of *Stephania* were discussed.

Key words *Stephania*; Isoquinolide alkaloids; HPLC

我国产防已科千金藤属（*Stephania*）植物30余种，主要分布于长江以南地区，而以西南和华南地区种类最为丰富，其中有不少种类是我国民间药物[1]。该属植物块根硕大富含异喹啉类生物碱，近年来这类生物碱的生理活性不断得以阐明，有的并已开发用于临床。千金藤属植物中生物碱的分离提取、结构鉴定及化学结构改造工作已有大量

1990年 5 月收稿，1990年 7 月定稿。

*通讯联系人。

报道[2－6]，但对该属植物中异喹啉生物碱的HPLC定性定量测定尚未见报道，为了筛选千金藤属植物中有用生物碱资源、探讨生物碱成分与该属植物系统分类之间的相关性以及同一植物中不同产地、不同采集季节生物碱成分的变化规律等，本文选取8个主要的异喹啉生物碱建立了HPLC定性定量方法，并对千金藤属9种植物的12个样品进行了分析。

实 验 部 分

仪器试剂及样品来源

仪器：岛津LC-4A高效液相色谱仪，Zorbax CN（4.6×250mm，Dupont）色谱柱，SPD-2AS紫外检测器，灵敏度0.08Aufs，波长282nm。

化学试剂：MeOH，NH_4OH，分析纯试剂；二次重蒸过滤蒸馏水。

分析样品：全部实验材料采自云南和贵州，并经华南植物研究所罗献瑞先生鉴定学名。

实验条件与方法

1.生物碱的提取与制备　干燥恒重的千金藤属植物根粉用甲醇提取回流一昼夜，过滤，滤渣用甲醇洗涤，合并滤液，减压蒸干，烘干称重。将上述甲醇提取物溶解在3％的盐酸中，过滤，滤液用NH_4OH碱化到pH 10，氯仿萃取4次，氯仿层用水洗1次，无水硫酸钠干燥，减压蒸干，烘烤至恒重，得总生物碱。

2.标准品　取光千金藤碱（stepholidine）（1）0.44mg，颅痛定（rutondine）（2）1.25mg，克斑宁（crebanine）（3）0.57mg，异紫堇定（isocorydine）（4）1.38mg及荷包牡丹碱（dicentrine）（5）1.4mg分别溶于1 ml容量瓶内，用100μl注射器分别吸取40μl，混溶于2 ml容量瓶内甲醇定容，另取千金藤素（cepharanthine）（6）2.02mg，汉防己甲素（tetradrine）（7）0.9mg，轮环藤宁（cycleanine）（8）2.92mg分别溶于1 ml容量瓶内，甲醇定容，用微量注射器分别吸取0.5ml混溶于2ml容量瓶内，甲醇定容，备用。

3.分析条件　比较了whatman ODS柱、Zorbax ODS柱和Zorbax CN柱等色谱柱；胶束溶液、磷酸盐缓冲溶液及含水甲醇等多种流动相；选择了多种波长条件，结果以Zorbax CN柱，MeOH：H_2O：NH_4OH为流动相可得到较满意的分离效果。其中以MeOH：H_2O：NH_4OH(85：15：0.2)为流动相，流速0.3ml/min，波长282nm，灵敏度0.08Aufs，纸速2.0mm。

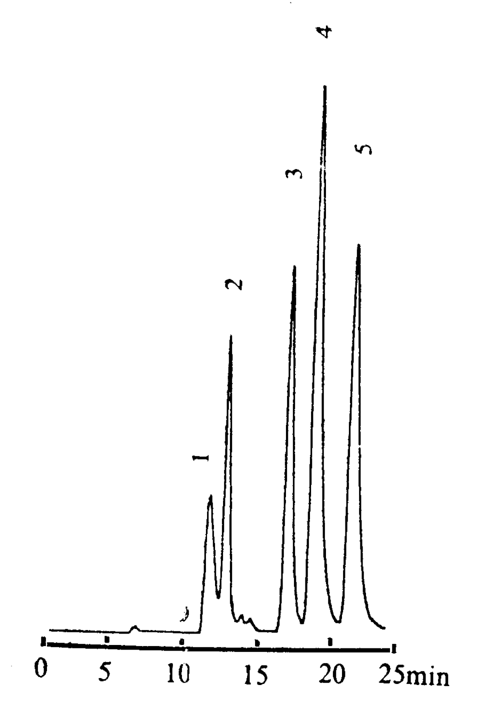


图1、千金藤生物碱1—5标样色谱图

Fig 1 The HPLC chromatogram of alkaloids 1—5.
eluents：MeOH-H_2O-NH_4OH(85：15：0.2)

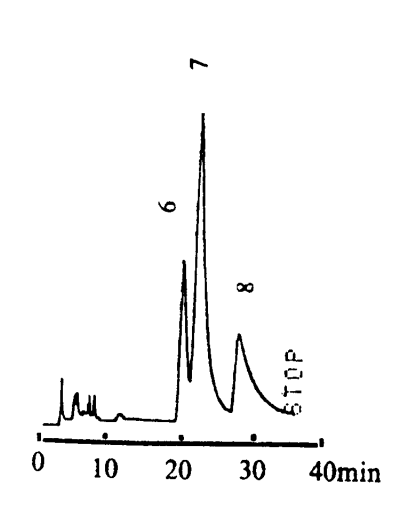


图2、千金藤生物碱6—8标样色谱图

Fig 2 The HPLC chromatogram of alkaloids 6—8.
eluents：MeOH-H_2O-NH_4OH(97.5：2.5：0.2)

分离四氢小檗碱型和阿朴芬型生物碱 1—5；另以MeOH：H_2O：NH_4OH（97.5：2.5：0.2）为流动相，流速0.8ml/min，波长282nm，灵敏度0.08Aufs，纸速1.5mm分离双苄基异喹啉生物碱 6—8，标准品的分离情况如图 1，2 所示。

4.线性关系及精密度　取标准品混合物100μl，200μl，300μl，400μl及500μl，分别置于1 ml容量瓶内，MeOH稀释定容。按上述分离条件，分别进样 3 次，每次进样10μl，测定生物碱的峰面积值，用计算机处理表明，各生物碱的峰面积与浓度在进样量低于13μg的范围内呈通过原点的线性关系，相关系数为r＝0.999—0.9999（图 3），回收率98.28—102.74%，重复实验进样10次，变异系数为1.44—3.57%。

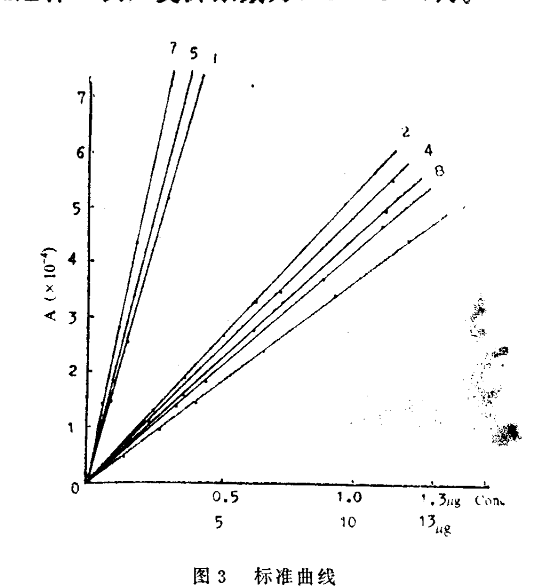


图 3　标准曲线

Fig 3　Standard curve

5.样品的测定　精密称取待测总生物碱样品4mg，每个样品称样 2 份，分别溶于2ml容量瓶内，甲醇定容，每次进样 5—10μl，每进样 3 次即注入一次标准样品对照，测定各生物碱的峰面积值，与标准品数据对照，用C-R3A数据处理机处理，得到各生物碱的浓度，从而计算百分含量，样品的分离情况如图 4，5。结果如表 1。

讨　论

1.千金藤属植物中含有多种类型的异喹啉生物碱，实验结果表明，双苄基异喹啉型生物碱（如6、7和8）在高效液相色谱柱上的分离现象与四氢小檗碱型（1和2）及阿朴芬型（3、4和5）不一致，宜分别采用两种移动相系统才能得到满意的分离。

2.千金藤属植物的生物碱成分随种类的不同有显著的差异。在不同种中，总生物碱的含量、生物碱成分的组成以及主要生物碱等均有明显的差异。在已分析的 9 种植物中以云南产的白药子（*S.cepharantha*）及贵州六盘水产黄叶地不容（*S.viridiflavens*）总生物碱含量最高，分别达14.38%和12.13%。而贵州正安产江南地不容（*S.excentrica*）的总生物碱含量最低，仅0.5%，黄叶地不容和广西地不容（*S.kwangsiensis*）的主要

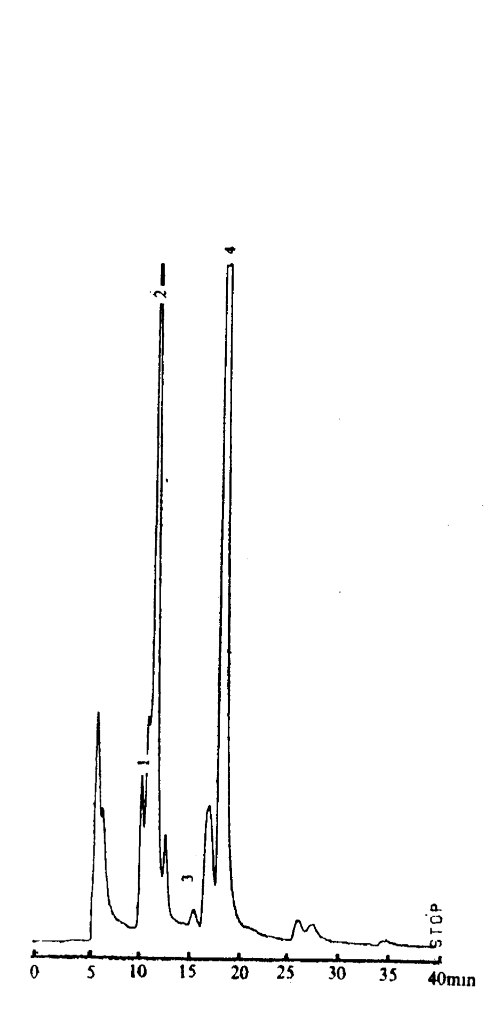


图 4　千金藤*S.cepharantha*样品色谱图、条件同图 1

Fig 4 Representative HPLC chromatogram of *S. cepharantha*, column condition same as in Fig 1.

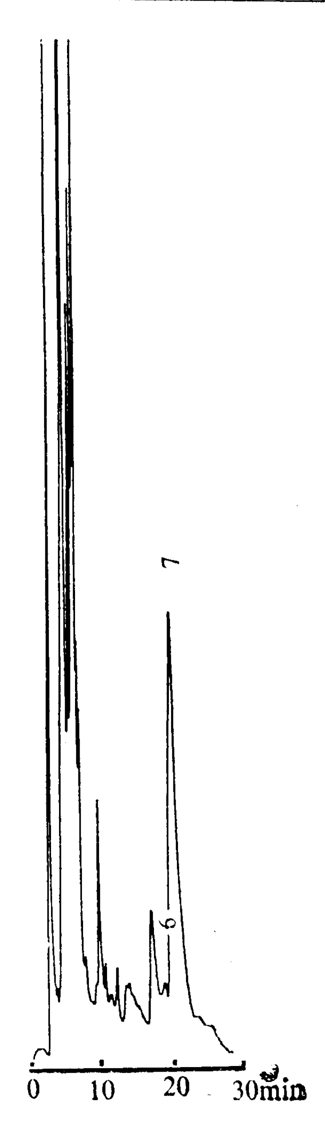


图 5　地不容*S.delavayi*,样品色谱图,柱条件同图 2

Fig 5 Representative HPLC chromatogram of *S. delavayi*, column condition same as in Fig 2.

成分为颅痛定 (rutondine)（2），含量均在4.0%以上。就生物碱的分布而言，1、2、3是广布的生物碱。其中，2往往是一些种类的主要成分，含量最高可达5.0%以上，而1和3则往往以微量存在于千金藤属植物中，5、6。7和8仅存在于一些特定的种中。从生物碱的生物合成途径联系到该属植物的种系发生，进一步的研究或可具有化学分类学的意义。

3.分析结果表明，即使是同一种，生物碱成分也随产地不同有明显变化。例如，云南产的白药子中2及4的含量均在2.0%以上，而贵州产的白药子总生物碱的含量仅4.07%，且以轮环藤宁 (cycleanine)（8）的含量较高。云南和贵州产的地不容〔*S.delavayi* Diels

（=*S.epigaea* H.S.Lo)〕总生物碱的含量和生物碱的组成也有明显的差异。看来千金藤属植物中生物碱组成的差异既有遗传的机制又受环境和生长发育的影响，值得进一步研究。在开发利用中应按种类和产地的不同，在分析生物碱成分的基础上，区别利用，以免造成资源的浪费与破坏。

表1　千金藤属植物中生物碱的含量（%）

Table 1 Content of alkaloids in *Stephania* plants(%)

Plant name	Collected local	Total alkaloid	1	2	3	4	5	6	7	8
S. delavayi Diels	Yunnan	6.27	0.2031		0.0086	0.0120	0.0145	0.1638	0.5458	
S. delavayi Diels	Guizhou Weilin	3.87	0.2075	0.1308	0.0073	0.0745		0.0785	0.2090	
S. cepharantha Hayata	Yunnan	14.38	0.5659	2.5662	0.0370	2.5736				
S. cepharantha Hayata	Guizhou Tongren	4.07	0.0502	0.0247	0.0053	0.0483			0.0957	0.4245
S. yunnanensis H.S.Lo	Yunnan Sujiang	4.79		0.6198	0.5551	0.5913				
S. yunnanensis H.S.Lo	Guizhou Lipo	8.26	0.1344	1.1194	1.0197		0.0204			
S. dentifolia H.S.Lo	Yunnan Mengsi	5.55	0.2820	0.3010	0.7115			0.0644		
S. mashanica H.S.Lo	Guizhou Qinglong	0.93	0.1844	0.1983	0.0014	0.0033				
S. viridiflavens H.S.Lo	Guizhou Lupenshi	12.13	0.3825	5.785	0.0430					
S. kwangsiensis H.S.Lo	Guizhou Xingyi	8.22	0.2549	4.4341	0.0184	0.0135				
S. excentrica H.S.Lo	Guizhou Zhengan	0.50	0.0854	0.0154	0.0078					
S. sinica Diels	Guizhou Dafang	2.15	0.2467		0.0113	0.0190	0.0020	0.2643	0.0064	

参　考　文　献

1　杨鹤鸣，罗献瑞．药学学报　1980；15(11)：674—682

2　朱兆仪，冯毓秀，何丽一等．药学学报 1983；18(7)：535—540

3　刘昌孝，肖培根．药学通报 1983；18(5)：287—292

4　何丽一．中草药 1983；14(9)：395—398

5　周元瑶，陈燕祥，朱斌等．中草药 1989；20(7)：5—8

6　Sugimoto Y, Sugimura Y, Yamada Y et al. *Phytochemistry* 1988；27(5)：1379—1381